

GACETA MÉDICA DE MÉXICO

ARTÍCULO DE REVISIÓN

Utilidad de los microARN en el diagnóstico y pronóstico del cáncer colorrectal (CCR)

Abril Reneé Arredondo-Valdez^{1,3}, Laura Wence-Chavez^{2,3} y Mónica Alejandra Rosales-Reynoso^{3*}

¹Doctorado en Farmacología; ²Doctorado en Biología Molecular, Universidad de Guadalajara; ³División de Medicina Molecular, Centro de Investigación Biomédica de Occidente, IMSS. Guadalajara, Jal., México

Resumen

El objetivo de esta revisión es presentar un panorama general sobre la importancia de los microARN en el CCR. Primero nos enfocaremos en los mecanismos por los cuales los microARN regulan la expresión de sus genes diana y cómo una regulación alterada de los microARN está asociada con diversos tipos de cáncer, incluyendo el CCR. Posteriormente, se abordarán algunos ejemplos de microARN que han sido asociados con cáncer y cómo los patrones de expresión de ciertos microARN pueden ser utilizados como biomarcadores potenciales para el diagnóstico, pronóstico y la respuesta terapéutica en el CCR. Finalmente se describen cómo algunos polimorfismos presentes en los microARN se asocian con el riesgo y pronóstico en el CCR.

PALABRAS CLAVE: Cáncer colorrectal. MicroARN.

Abstract

The aim of this review is to present a general overview about the importance of micro RNAs (miRNAs) in colorectal carcinoma. First, we focused on the mechanisms whereby the miRNAs regulate the expression of target genes, and how an altered regulation of them is associated with several types of cancer, including colorectal carcinoma. Later, examples of some miRNAs that have been associated with cancer development and how the expression patterns of specific miRNAs can be used as potential biomarkers for prognosis, diagnosis and therapeutic outcome in colorectal carcinoma are addressed. Finally, several polymorphisms presents in the miRNAs that have been associated to risk and prognosis in colorectal carcinoma are described. (Gac Med Mex. 2016;152:386-9)

Corresponding author: Mónica Alejandra Rosales-Reynoso, mareynoso77@yahoo.com.mx, mareynoso@hotmail.com

KEY WORDS: Colorectal cancer. miRNA.

Correspondencia:

*Mónica Alejandra Rosales-Reynoso
División de Medicina Molecular
Centro de Investigación Biomédica de Occidente. IMSS
Sierra Mojada, 800
Col. Independencia. C.P.44340, Guadalajara, Jal. México
E-mail: mareynoso77@yahoo.com.mx
mareynoso@hotmail.com

Fecha de recepción: 04-03-2015
Fecha de aceptación: 06-07-2015

Introducción

Actualmente el CCR es una de las principales causas de muerte en países occidentales¹. De acuerdo a datos de Globocan en el 2012, México se ubicó en el cuarto sitio en incidencia y mortalidad por cáncer para ambos géneros². El CCR es una enfermedad heterogénea, especialmente con respecto a la localización anatómica del tumor, a las diferencias genéticas y raciales y por último a las interacciones del estilo de vida que influyen en su desarrollo. De manera que se ha establecido como una enfermedad compleja en donde participan factores de riesgo genéticos y ambientales^{1,3,4}. Entre los factores de riesgo se encuentran el tener una historia familiar de neoplasias colo-rectales, el desarrollo de pólipos, enfermedades intestinales inflamatorias (colitis ulcerativa), obesidad, el abuso del consumo de tabaco y/o alcohol y el estrés⁴. Se ha descrito que pacientes que realizan ejercicio y consumen fármacos antiinflamatorios no esteroideos tienen un riesgo disminuido a desarrollar CCR^{3,4}. Entre todos los casos de CCR, aproximadamente el 75% son de origen esporádico y los restantes se relacionan con una historia familiar y/o a enfermedades intestinales inflamatorias⁵. De los casos familiares, aproximadamente el 5% tienen un patrón de herencia bien definido⁶.

Actualmente la mayoría de las investigaciones se han enfocado en analizar el uso potencial de los microARN como biomarcadores de riesgo, de diagnóstico y de pronóstico en el CCR, por lo que la siguiente revisión explicará algunos ejemplos de microARN involucrados en estos procesos.

Función de los microARN

Los microARN son una clase de ARN pequeños de 19 a 22 nucleótidos no codificantes que regulan la expresión génica de forma post-transcripcional. Se unen por complementariedad de bases a ARNs mensajeros (ARNm) diana, bloqueando la síntesis de proteínas por alguno de los mecanismos hasta ahora conocidos: desestabilización del ARNm y/o represión traduccional⁷.

El primer microARN fue descubierto en 1993 por el grupo dirigido por Víctor Ambros, quienes demostraron que *lin-4* estaba implicado en el control de la progresión temporal de la diferenciación celular en *C. elegans*. Lo único que sabían en ese tiempo era que en la etapa larvaria 1, *lin-4* regulaba negativamente los niveles de una proteína llamada LIN-14. Este grupo de

investigación encontró que *lin-4* no es un gen que codifica para una proteína, sino que da origen a dos ARNs: uno de 22 nt y otro de aproximadamente 60 nt, el que potencialmente podría formar una estructura de horquilla y ser el precursor del ARN más corto. Posteriormente vieron que estos ARNs mostraban zonas anti-sentido complementarias a múltiples sitios de la zona 3'UTR del gen *lin-14*, además mostraron que existía una disminución de la cantidad de proteína sin que hubiera una reducción de los niveles de ARNm. Así, descubrieron que la manera en la que el ARN de *lin-4* de 22 nt regula la producción de la proteína LIN-14 es uniéndose al ARNm de *lin-14* por complementariedad de bases, evitando así su traducción. Estas fueron las primeras observaciones descritas en las que un ARN pequeño se unía directamente a un ARNm para inhibir su expresión⁸. En el 2000, se encontró que otro microARN, el *microARN-7*, participaba en el control de la progresión del desarrollo en los nematodos⁹. Pronto siguieron los descubrimientos de otros microARN que regulaban otros procesos como la apoptosis, la proliferación y la diferenciación en *Drosophila*, ratones y seres humanos^{10,11}. Calin, et al. publicaron el primer estudio que relaciona a los microARN con cáncer en el 2002. Estos autores demostraron que los *microARN-15* y *microARN-16* están localizados en el cromosoma 13 en una posición donde existe una delección de un gen supresor de tumor, esta delección está asociada con más de la mitad de los casos de leucemia linfocítica crónica¹².

Algunos investigadores han propuesto que los microARN pueden ser herramientas útiles para la caracterización de cánceres específicos y que los patrones de expresión de microARN podrían ayudar a identificar tumores sólidos humanos, sugiriendo el pronóstico del paciente, e incluso representando una nueva diana molecular para el tratamiento del cáncer.

Procesamiento y mecanismo de acción de los microARN

Hasta la fecha se ha descrito que existen tres pasos en la maduración de los microARN: transcripción del pri-microARN, escisión en el núcleo para formar el pre-microARN, y una escisión final en el citoplasma para formar el microARN maduro^{13,14}.

En general los microARN se transcriben de regiones intergénicas aunque también se ha visto que lo hacen a partir de regiones intrónicas, ya sea de manera individual o en grupos de varios microARN contenidos en un solo transcripto¹⁵.

Los microARN son transcritos por la ARN polimerasa II para generar moléculas precursoras o pri-microARN con un casquete (7-metil-guanosina) en el extremo 5' y una cola de poli (A) en el extremo 3'¹⁶. Los pri-microARN pueden llegar a medir hasta 1 kb de longitud y forman estructuras en horquilla. Estos se pueden encontrar como transcriptos independientes o dentro de los intrones de otro gen. Por ejemplo, *lin-4* se encuentra dentro de un gen huésped, está flanqueado por sitios de empalme donantes y aceptores, y se transcribe como un intrón⁸. Lagos-Quintana, et al. describieron la organización genómica de los isómeros del microARN *let-7*, los cuales se encontraron como grupos de genes localizados en los cromosomas 9 y 17¹⁵.

Estos pri-microARN son procesados en el núcleo por un complejo microporcesador. Este complejo está compuesto por la enzima drosha (una RNasa de tipo III) y por la proteína DGCR8 (de unión a ARN de doble cadena). La proteína DGCR8 juega un papel importante en el reconocimiento de los sitios de corte de drosha, los cuales se localizan en la base del tallo de la estructura del pri-microARN. El corte de drosha da origen a un precursor más pequeño conocido como pre-microARN, de 60-70 nt de longitud¹⁷⁻¹⁹. Después los pre-microARN migran desde el núcleo hacia el citoplasma a través del transportador de la membrana nuclear llamado exportina 5, el cual es dependiente de RanGTP^{20,21}. En el citoplasma, el pre-microARN sufre otro procesamiento en el que la enzima dicer escinde el asa terminal para formar un dúplex microARN-microARN que es desenrollado por una helicasa para liberar dos microARN maduros de aproximadamente 22 nt de longitud, de los cuales uno o ambos pueden estar activos. Por lo general la cadena sentido es degradada, mientras que la cadena anti-sentido sirve como guía para reconocer al ARNm diana²² (Fig. 1).

El microARN maduro se asocia con el Complejo de Silenciamiento Inducido por ARN (RISC) y lo guía hacia el ARNm diana, con el fin de que actúe sobre ellos bloqueando la síntesis de proteínas²³. El complejo RISC está constituido por varias proteínas, principalmente por la enzima dicer y por las proteínas Argonauta 2 (Ago2). Las proteínas Ago2 están localizadas en regiones específicas del citoplasma denominadas cuerpos-P, los cuales son regiones con altas tasas de degradación del ARNm, aunque también se ha identificado que en los cuerpos-P el ARNm puede ser almacenado y posteriormente liberado para su traducción²⁴. La maquinaria celular responsable de la degradación de los ARNm está principalmente concentrada en los

cuerpos-P. Estos contienen una enzima que escinde la caperuza 5' (hDcp1/2), una exonucleasa (hXrn1), y una proteína de degradación del ARNm (LSm1-7)^{25,26}.

Una característica general de los microARN es su apareamiento imperfecto con el ARNm diana en la región 3'UTR (región no traducible)²⁷. Los microARN maduros inhiben la expresión de proteínas de dos maneras: mediante la degradación del ARNm y mediante la represión traduccional. En la primera, los microARN maduros actúan a través de RISC para reconocer y escindir el ARNm²⁸. Los microARN pueden escindir a su ARNm diana sin complementariedad perfecta; sin embargo, la introducción de un microARN sintetizado con complementariedad perfecta puede mediar también la escisión de su ARNm diana²⁹. La segunda forma en que los microARN actúan es a través de la inhibición de la traducción, esto ocurre cuando el microARN se aparea imperfectamente con su ARNm diana, lo que sugiere que la función de los microARN depende en gran medida del grado de complementariedad de la secuencia con su ARNm diana³⁰. Es decir, si existe complementariedad perfecta el microARN induce la degradación del ARNm diana por acción del RISC. De manera alternativa, si la complementariedad es imperfecta, RISC actúa silenciando o bloqueando la traducción del ARNm.

En 1999, Olsen y Ambros³¹ demostraron que los microARN inhiben la traducción de proteínas mediante el aislamiento del ARNm *lin-14* junto con el microARN *lin-4*, del complejo ribosomal citoplasmático. Este estudio también demostró que el mecanismo de acción de *lin-4* no fue mediado por escisión o degradación del ARNm, debido a que el nivel del ARNm *lin-14* se mantuvo constante y las colas poli-A no se acortaron. Posteriormente, Kim, et al.³² reportaron resultados análogos en las neuronas de mamíferos. Estos autores demostraron que todos los microARN que son regulados temporalmente se localizan en polirribosomas. En resumen, parece que los microARN controlan la expresión de sus ARNm diana mediante la regulación de la localización del ARNm en los cuerpos-P donde son degradados. Adicionalmente, los microARN interfieren con la traducción de proteínas en polirribosomas a través de un mecanismo desconocido.

MicroARN en cáncer

Poco después del descubrimiento de que las delecciones en microARN eran asociadas con la leucemia mieloide crónica (CLL), se reportaron otras anomalías relacionadas con microARN (linfoma de Burkitt

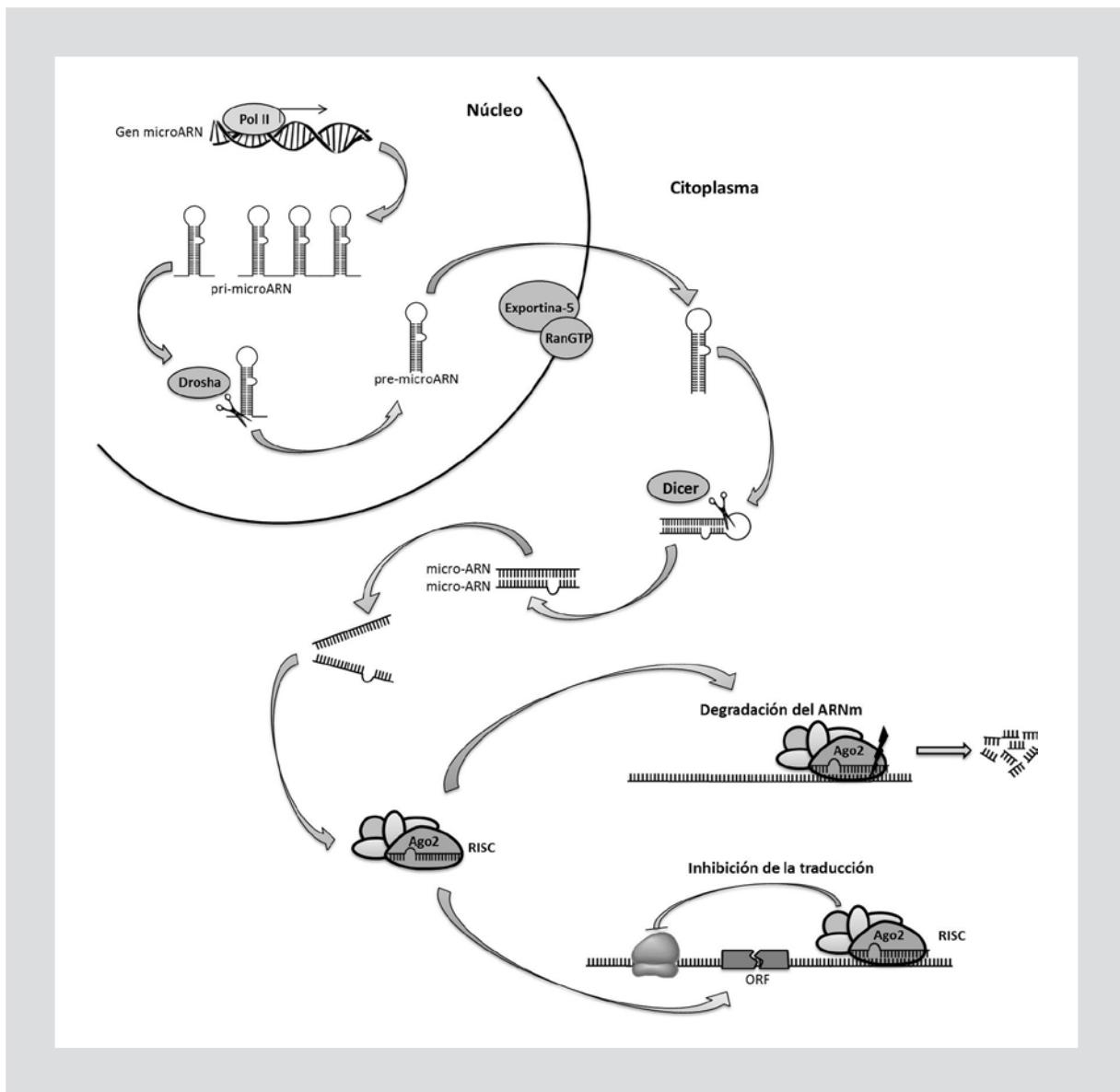


Figura 1. Biosíntesis y mecanismos de acción de los microARN (Tomada y modificada⁷).

pediátrico, carcinoma de pulmón, y el linfoma de células grandes)³³. Por ejemplo, el *microARN-155*, situado en el gen *B/C*, el cual se encuentra sobre-expresado en muchos tipos de linfomas de células B, incluyendo el linfoma difuso de células B y el linfoma de Burkitt pediátrico^{34,35}. Takamizawa, et al.³⁶ reportaron disminución de la expresión del microARN *let-7* en diferentes cánceres de pulmón (de células no pequeñas hasta carcinomas de células grandes). Estos autores también encontraron que la expresión disminuida de *let-7* se correlacionaba con un peor pronóstico en el paciente. En 2003, Michael, et al.³⁷ publicaron el primer estudio de microARN en el cáncer de colon, los cuales fueron identificados como *microARN-143* y *microARN-145*.

Subsecuentes autores identificaron microARNs adicionales mediante el uso de nuevas herramientas de investigación, y en la actualidad hay más de 100 microARN implicados en el CCR³³. De este modo, estudios recientes han correlacionado patrones de expresión específicos de microARN con ciertos tipos de cáncer³⁸.

MicroARN candidatos para CCR

Michael, et al. identificaron al *microARN-143* y al *microARN-145*, como factores potenciales en la tumorigénesis colorrectal³⁷. Ellos aislaron el ARN total de un individuo sano y de un paciente con adenocarcinoma

de colon y compararon las secuencias contra las bases de datos publicados en microARN. Entre los resultados encontraron que *microARN-143* y *microARN-145* se localizan en el cromosoma 5, y sus niveles de expresión se mostraban reducidos en las células epiteliales del cáncer de colon. Los genes diana de estos microARN aún permanecen no identificados, sin embargo existen algunos candidatos. El análisis de transfección en células deficientes del precursor de *microARN-143* conduce a una disminución de la proteína ERK5, con niveles normales del ARNm del gen *ERK*, lo cual sugiere que *microARN-143* inhibe post-transcripcionalmente a ERK5 en una forma que no involucra la degradación de su ARNm³⁹. Shi, et al., utilizando 4 métodos de predicción de dianas de microARN (miRanda, TargetScan, miRBase, MiRNAMap), identificaron que el ARN diana del *microARN-145* era el del sustrato 1 del receptor de insulina (*IRS-1*), el cual es una secuencia específica del sitio de unión en la región 3'UTR del ARNm del *IRS-1*⁴⁰. Estos autores encontraron que *IRS1* es sub-expresado por *microARN-14*; para verificar estos resultados ellos crearon un reportero híbrido del gen *luciferasa* de la región 3'UTR del *microARN-145* y mostraron que la transfección de *microARN-145* disminuía la actividad del reportero. También mostraron que el *microARN-145* conduce a la inhibición del crecimiento celular. Estos estudios realizados en *microARN-143* y *microARN-145* sugieren que estos microARN ejercen un efecto supresor tumoral. Otro ejemplo de microARN es la familia de *let-7* el cual está comprendido de 14 isómeros muchos de los cuales son alterados en el CCR³³. En otro estudio realizado por Akao, et al., reportaron subexpresión de *let-7a-1* en tumores de cáncer de colon y en líneas celulares derivadas de colon (DLD-1)⁴¹. De manera independiente otro estudio realizado en China corroboró este hallazgo en un pequeño número de pacientes con CCR, así mismo en la línea celular derivada de colon mostró niveles disminuidos de *let-7a1*, por otro lado al realizar la transfección con el precursor del *let-1a1*, mostró reducido crecimiento celular y disminuyó la expresión de las proteínas RAS y c-Myc⁴². Este efecto inhibitorio se asemeja al de los *microARN-143* y *microARN-145* el que los niveles del ARNm de ambas proteínas permanecen en niveles normales. La inhibición de RAS por *let-7a* y la expresión proteica de c-Myc han sido reportadas en cáncer de pulmón y en el linfoma de Burkitt^{43,44}. La función específica y los diana de los otros isómeros de *let-7* hasta la fecha permanecen desconocidos. Otro ejemplo es el *microARN-34a*, el cual ha mostrado

que inhibe la proliferación celular. Tazawa, et al. demostraron su actividad en el ciclo celular mediante la utilización de líneas celulares derivadas de colon (HTC116 y RKO), en donde encontraron que las células estaban en un estado similar al de senescencia. Los resultados realizados mostraron que el *microARN-34a* disminuye la expresión del factor de transcripción E2F y sobre-expresa a p53⁴⁵.

MicroARN como biomarcadores de diagnóstico para CCR

Indudablemente, la detección temprana del CCR provee una mejor oportunidad de éxito en los tratamientos utilizados, además los tratamientos quimioterapéuticos actuales han mejorado significativamente los índices de supervivencia en los pacientes con CCR, por lo tanto es importante incrementar la eficiencia de los métodos utilizados en la detección del CCR. Actualmente entre los métodos utilizados se encuentran la colonoscopia y el examen de sangre oculta en heces (FOBT), los cuales han mejorado las tasas de supervivencia para el CCR a través de la detección de pacientes en etapas tempranas del cáncer. Por ejemplo, la colonoscopia es considerada la mejor prueba de diagnóstico ya que puede remover los pólipos pre-malignos durante el procedimiento, sin embargo es una prueba invasiva y costosa, lo que trae como resultado bajas tasas de conformidad; por otro lado el FOBT es una prueba menos invasiva, pero a su vez es menos sensible y específica; desafortunadamente ninguno de estos métodos complementan el diagnóstico debido a la falta de especificidad. Por tal situación se requieren nuevos exámenes no invasivos y biomarcadores más exactos para poder mejorar las tasas tanto de exactitud como de diagnóstico del CCR. En este sentido la utilización de los microARN está siendo evaluada debido al potencial que presentan dentro de esta área, como complemento de las pruebas diagnósticas⁴⁶. La identificación de los microARN circulantes puede ser detectada en suero o en plasma. Ng, et al. fueron los primeros en reportar que los niveles circulantes de microARN eran diferentes en el plasma sanguíneo de pacientes con CCR⁴⁷; en un estudio de casos y controles ellos encontraron que el *microARN-92* se expresaba altamente en el plasma proveniente de los pacientes con CCR y podía ser fácilmente diferenciado de los controles clínicamente sanos con un 70% de especificidad y un 89% de sensibilidad. La expresión del *microARN-92* se vio reducida después de la resección quirúrgica del tumor, sugiriendo que los niveles plasmáticos del microARN

podrían ser un marcador útil de recurrencia de la enfermedad. En otro estudio, Huang, et al. validaron estos descubrimientos mostrando que los niveles plasmáticos del *microARN-92* podían discriminar los casos con CCR de los controles con una sensibilidad del 65% y una especificidad del 82%⁴⁸. Aunque los niveles del *microARN-92* no son suficientemente exactos por sí solos para ser considerados como un marcador diagnóstico, estos pueden ser desarrollados junto con marcadores adicionales para mejorar la exactitud del diagnóstico. Un estudio similar realizado por Cheng, et al. reportó que los niveles circulantes del *microARN-144* se mostraron elevados en pacientes con CCR metastásico y su expresión se asociaba con mal pronóstico, sugiriendo que este microARN puede ser utilizado en conjunto con el antígeno carcinoembriogénico (CEA) para detectar metástasis en los pacientes con CCR⁴⁹.

La medición de los microARN en las heces ofrece otro examen alternativo no invasivo para detectar CCR. Link, et al. en un estudio de casos y controles reportaron que en las heces provenientes de pacientes con CCR se expresaban niveles aumentados del *microARN-21* y el *microARN-106a*⁵⁰. En otro estudio en pacientes con CCR y controles, realizado por Koga, et al., se investigaron los patrones de expresión de algunos microARN provenientes de colonocitos aislados de las heces y demostraron que el patrón de expresión de los microARN provenientes de las muestras con CCR podía ser diferenciado de los controles con una sensibilidad del 74% y una especificidad del 79%^{51,52}. Kalimutho, et al. reportaron que los patrones de metilación en el ADN que codifica para microARN, aislado de heces, podrían tener una prometedora aplicación como prueba de diagnóstico de CCR⁵². El patrón de hipermetilación del *microARN-34b/c* procedente de muestras fecales de pacientes con CCR podía ser diferenciado de los controles con una sensibilidad del 75% y una especificidad del 84%. Futuros análisis son necesarios para garantizar que los patrones de expresión o metilación de los microARN provenientes de muestras fecales pueden ser utilizados, ya sea de manera individual o en combinación con pruebas como FOBT, como una estrategia diagnóstica efectiva para detectar CCR⁴⁶.

Expresión de microARN como marcadores predictivos y de pronóstico

Los microARN como biomarcadores moleculares pueden ser utilizados como herramientas predictivas o de pronóstico para ayudar a estratificar a los pacien-

tes con cáncer dentro de grupos de riesgo apropiados con la finalidad de ayudar a los médicos a tomar decisiones terapéuticas. Dichas decisiones pueden incluir la decisión de proveer o no terapia quimio-adyuvante o cualquier tipo de terapia que pueda ser la más apropiada. Los patrones de expresión de los microARN han sido asociados a resultados tanto pronósticos como predictivos en el CCR⁴⁶.

La expresión aumentada del *microARN-21* posee una amplia y reproducible asociación con el pronóstico de cáncer de colon. Schetter, et al. fueron los primeros en reportar tal asociación basados en los patrones de expresión del microARN provenientes del análisis de microarreglos realizados en pacientes con cáncer de colon y de un estudio adicional realizado en una cohorte de individuos chinos⁵³. En ambas cohortes los niveles aumentados de expresión del *microARN-21* encontrado en tumores fue asociado con un peor pronóstico y con una pobre respuesta terapéutica. Esta asociación fue significativa para los pacientes catalogados como etapa II según la clasificación TNM, demostrando así que la expresión del *microARN-21* podría ser de utilidad como un biomarcador en etapa temprana para identificar sujetos con alto riesgo de progresión del cáncer que no tengan evidencia de metástasis o avance de la enfermedad.

La asociación de los niveles aumentados de expresión del *microARN-21* con una pobre o reducida supervivencia en el CCR ha sido validada en al menos 3 estudios adicionales de diferentes poblaciones (un estudio realizado por Shibuya, et al.⁵⁴, un estudio realizado por Kulda, et al.⁵⁵ y un estudio realizado por Nielsen, et al.⁵⁶). El hecho de que tal asociación sea observada en diversas poblaciones utilizando diversos métodos de medición de *microARN-21* determina que la expresión del *microARN-21* es un marcador pronóstico para detectar CCR. De hecho, la asociación de los niveles aumentados de este *microARN-21* con un mal pronóstico ya se ha reportado en al menos 9 tipos de cáncer diferentes, dentro de los cuales se incluyen cáncer de pulmón^{57,58}, de mama⁵⁹, pancreático⁶⁰, de lengua⁶¹, gástrico⁶², de cabeza y cuello⁶³, leucemia linfocítica crónica⁶⁴, melanoma⁶⁵ y astrocitoma⁶⁶. Estos hallazgos son consistentes con la hipótesis de que la sobre-expresión de este microARN es un marcador pronóstico para diversos tipos de malignidades⁴⁶.

Estudios adicionales han identificado patrones de expresión de microARN que han sido asociados ya sea con pronóstico o respuesta terapéutica. Entre algunos ejemplos se encuentran los niveles de expresión de los *microARN-106b*, *microARN-320*, *microARN-489*,

microARN-125b, microARN-145, microARN-185, microARN-133b, microARN-215 y el *microARN-17⁶⁷⁻⁷³*. Por otra parte, la expresión elevada del gen que codifica para la enzima dicer ha sido asociada con mal pronóstico en el CCR⁷⁴. La combinación de múltiples biomarcadores independientes validados puede proveer una mejor estratificación de riesgo en pacientes. Como un ejemplo de esto, se ha reportado que la combinación de los datos de expresión del *microARN-21* acompañada de algún gen inflamatorio utilizado como clasificador, ha demostrado mejorar significativamente la estratificación por riesgo de mortalidad específico de cáncer⁷⁵. Dicha combinación resultó ser significativa para pacientes con cáncer de colon en estadio II (TNM), indicando su posible utilidad para identificar a pacientes que tienen mayor probabilidad de desarrollar micro-metástasis no detectable. En la tabla 1 se muestran algunos ejemplos de microARN que están potencialmente asociados con el pronóstico y con la respuesta terapéutica en pacientes con CCR.

Polimorfismos en microARN y riesgo de CCR

Estudios recientes han sugerido que el 35% de los casos de CCR pueden ser atribuidos a factores genético-hereditarios¹²⁰. Dichos factores pueden deberse a los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) y a otras anomalías genéticas tanto en genes codificantes como en los no codificantes⁴⁶. Debido a que los microARN juegan un papel importante en la iniciación y desarrollo del CCR, es posible que la presencia de SNP que interrumpen la expresión, la secuencia, el sitio de unión o el procesamiento del microARN pueda alterar la susceptibilidad de un individuo a desarrollar CCR¹²¹. Zhan, et al. reportaron que un polimorfismo en el *microARN-196a* conducía a la expresión alterada del microARN y a un incremento en la incidencia del CCR en población China¹²². Landi, et al. realizaron un análisis global de la región 3'UTR en genes candidatos llevando a la identificación de 2 SNP; uno de ellos alteraba el sitio de unión de los *microARN-337, microARN-582, microARN-200a, microARN-184* y *microARN-212* con el ARNm *CD86*, mientras el segundo SNP alteraba el sitio de unión del *microARN-612* con el ARNm *INSR*. Cada uno de estos SNP fue asociado con mayor riesgo de cáncer¹²³. Zanetti, et al. reportaron recientemente que la presencia de un SNP en el *microARN-257a* alteraba la unión del microARN con la región 3'UTR del ARNm *MBL2* y que este SNP se asociaba con el riesgo de desarrollar CCR¹²⁴.

Estudios similares han evaluado la relación de los SNP presentes en microARN y su posible asociación con el pronóstico y la respuesta a tratamiento⁴⁶. Por ejemplo, Lee, et al. realizaron un estudio en pacientes con CCR y encontraron un SNP en el *microARN-492* que se asociaba con un mejor pronóstico en la supervivencia a CCR¹²⁵. KRAS-LCS6 es un SNP de particular interés debido a que su presencia altera el sitio de unión de *let-7* a la región 3'UTR de KRAS. Se ha demostrado que pacientes con CCR portadores de mutaciones en KRAS no responden a las terapias con anticuerpos dirigidos contra el receptor del factor de crecimiento epidérmico (anti-EGFR). Debido a que la variante (KRAS-LCS6) puede alterar los niveles proteicos de KRAS, ha surgido la hipótesis de que la variante puede verse involucrada en la respuesta al tratamiento. En un estudio realizado por Graziano, et al. en pacientes con CCR metastásico sin mutaciones en BRAF que recibieron terapia anti-EGFR, reportaron que los pacientes que tenían el SNP KRAS-LCS6 mostraron muy pobre supervivencia¹²⁶. En contraste, en otro estudio realizado por Zhang, et al. en pacientes con CCR metastásico con KRAS de tipo silvestre, encontraron que el SNP KRAS-LCS6 fue asociado con una mejor respuesta a la terapia anti-EGFR¹²⁷. En un tercer estudio realizado por Smits, et al. en pacientes con CCR, el SNP KRAS-LCS6 se asoció con una mejoría en la supervivencia solo en los casos de etapa temprana, sin embargo no se observó ningún beneficio para la supervivencia en pacientes en etapa tardía¹²⁸. Estos resultados aparentemente contradictorios ponen de relieve la necesidad de una validación independiente en múltiples cohortes, con especial atención en el estado de mutación de KRAS y BRAF y su interacción con los regímenes quimioterapéuticos específicos.

Conclusiones

La identificación de microARN ha tratado de explicar la complejidad del control en la expresión. Investigaciones recientes han sugerido que la alteración de los microARN es un paso importante en el desarrollo de muchos cánceres, incluyendo el CCR. Actualmente los microARN están siendo estudiados dado el potencial que presentan como herramientas para caracterizar diferentes tipos de cáncer, esto se debe a que diferentes estudios han reportado que los patrones de expresión de diferentes microARN son característicos en ciertos tipos de cáncer. Es ampliamente conocido que la detección oportuna del CCR provee mejores oportunidades de tratamiento exitoso, por lo tanto los

Tabla 1. Ejemplos de microARN asociados con el pronóstico y respuesta terapéutica en el CCR

miARN	Expresión	Asociación con pronóstico	Asociación con respuesta a terapia	Referencias
<i>microARN-133b</i>	↓	Metástasis y pobre supervivencia		76, 77
<i>let-7g</i>	↑		Respuesta clínica a S-1	78, 79
<i>microARN-106a</i>	↑	Progresión y metástasis, pobre supervivencia		38, 80, 81, 82, 83
<i>microARN-200c</i>	↑	Pobre supervivencia		84
<i>microARN-21</i>	↑	Progresión de CCR, supervivencia independiente de progresión con peor pronóstico	Pobre respuesta terapéutica (principalmente FU) con o sin genéricos	43, 85, 80, 86, 54, 87, 56
<i>microARN-145</i>	↓	Inhibe crecimiento de tumor y angiogénesis		40, 88, 89, 90, 91, 92
<i>microARN-143</i>	↓	Tamaño de tumor primario, fenotipo más agresivo, supervivencia independiente de enfermedad más corta	Sensibilidad aumentada a 5-FU	85, 93, 88, 89, 47, 55, 91
<i>microARN-34a</i>	↓	Capacidad de supresor de tumor	Quimiorresistencia a 5-FU	45, 94
<i>microARN-215</i>	↓	Pobre supervivencia	Quimiorresistencia a metotrexato y tomudex	95, 96, 97
<i>microARN-17-5p</i>	↑	Supervivencia independiente de enfermedad acordada en estadio temprano de CCR (I y II)		67
<i>microARN-498</i>	↓	Peor supervivencia independiente de progresión en estadio II en CCR con estabilidad de microsatélite (MSS)		68
<i>microARN-181</i>	↑	Pobre supervivencia		80
<i>microARN-20a</i>	↑	Muy pobre pronóstico	Quimiorresistencia a 5-FU, oxaliplatino y teniposida	80, 98, 99, 100
<i>microARN-203</i>	↑	Pobre supervivencia	Incrementa la sensibilidad al paclitaxel en CCR con p53 mutado	80, 101, 102
<i>microARN-224</i>	↑	Progresión de tumor	La baja expresión se ha asociado con resistencia al metotrexato	81, 103
<i>microARN-451</i>	↓	Pobre pronóstico	Reduce la sensibilidad a la radioterapia, provoca quimiorresistencia al irinotecan	104, 105
<i>microARN-181b-2</i>	↑		Respuesta clínica a S-1	93, 79
<i>microARN-92a-1</i>	↑	Pobre pronóstico		89
<i>microARN-183</i>	↑	Muy pobre pronóstico		89, 106
<i>microARN-31</i>	↑	Estadio TNM avanzado e invasión profunda de tumor, pobre pronóstico	Quimiorresistencia a 5-FU	89, 107
<i>microARN-18a</i>	↑	Pobre pronóstico	Quimiorresistencia a 5-FU	89, 108
<i>microARN-195</i>	↓	Metástasis en nódulos linfáticos, estadio de tumor avanzado, pobre supervivencia		109, 110
<i>let-7b</i>	↓		Quimiorresistencia a cetuximab	111

Continúa

Tabla 1. Ejemplos de microARN asociados con el pronóstico y respuesta terapéutica en el CCR (Continuación)

miARN	Expresión	Asociación con pronóstico	Asociación con respuesta a terapia	Referencias
microARN-155	↑	Metástasis en nódulos linfáticos, peor supervivencia independiente de enfermedad		54
microARN-22	↓	Metástasis en hígado y pobre supervivencia	Provoca sobre-expresión de p53 mutado en células de CCR llevando a un incremento en la quimiosensibilidad a paclitaxel	112, 113
microARN-150	↓	Pobre supervivencia	Respuesta desfavorable a quimioterapia adyuvante con 5-FU en pacientes con estadio II y III	114
microARN-125	↑	Avance de tamaño e invasión de tumor, muy pobre pronóstico		69
microARN-185	↑	Metástasis y pobre supervivencia		115
microARN-19b	↑		Quimiorresistencia a 5-FU	108
microARN-365	↓	Progresión del cáncer y pobre supervivencia	Incrementa la sensibilidad a 5-FU	116
microARN-10b	↑	Invasión linfática y supervivencia acordada	Quimiorresistencia a 5-FU	117
let-7a	↑	Metástasis		118
microARN-29a/c	↑	Prolongada supervivencia independiente de enfermedad en estadio II		119

microARN tienen un gran potencial como biomarcadores predictivos, de diagnóstico, y de respuesta a tratamiento; así como de recurrencia de la enfermedad. Debido a la facilidad de su detección pueden ser utilizados para complementar pruebas diagnósticas ayudando así a incrementar su especificidad. Sin embargo es necesario realizar más estudios que puedan avalar y validar el uso de los microARN para la detección del CCR.

Bibliografía

- Manne U, Shanmugam C, Katkouri VR, Bumpers HL, Grizzie WE. Development and progression of colorectal neoplasia. *Cancer Biomark.* 2010;9(1-6):235-65.
- Globocan. 2012. Disponible en: <http://globocan.iarc.fr>.
- Huxley RR, Ansary-Moghaddam A, Clifton P, Czernichow S, Parr CL, Woodward M. The impact of dietary and lifestyle risk factors on risk of colorectal cancer: a quantitative overview of the epidemiological evidence. *Int J Cancer.* 2009;125:171-80.
- Juárez Vázquez CI, Rosales Reynoso MA. Cáncer Colorrectal (CCR): alteraciones genéticas y moleculares. *Gaceta Médica de México.* 2014;150:154-64.
- Hisamudding IM, Yang VW. Genetics of colorectal cancer. *Med Gen Med.* 2004;6:13-19.
- Worthley DL, Leggett BA. Colorectal cancer: molecular features and clinical opportunities. *Clin Biochem Rev.* 2010;31(2):31-8.
- Yang L, Belaguli N, Berger DH. MicroRNA and colorectal cancer. *World J Surg.* 2009;33(4):638-46.
- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell.* 1993;75:843-54.
- Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, et al. The 21 nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature.* 2000;403:901-6.
- Brennecke J, Hipfner DR, Stark A, Russell RB, Cohen SM. Bantam encodes a developmentally regulated microRNA that controls cell proliferation and regulates the proapoptotic gene hid in *Drosophila*. *Cell.* 2003;113:25-36.
- Lagos-Quintana M, Rauhut R, Yalcin A, Meyer J, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of tissue-specific microRNAs from mouse. *Curr Biol.* 2002;12:735-9.
- Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002;99:15524-9.
- Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature.* 2004;431:350-5.
- Bartel DP. MicroRNA: genomics, biogenesis, mechanisms, and functions. *Cell.* 2004;116:281-97.
- Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science.* 2001;294:853-8.
- Lee Y, Kim M, Han J, et al. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *Embo J.* 2004;23:4051-60.
- Lee Y, Jeon K, Lee JT, Kim S, Kim VN. MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization. *Embo J.* 2002;21:4663-70.
- Lee Y, Ahn C, Han J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature.* 2003;425:415-9.
- Denli AM, Tops BB, Plasterk RH, Ketting RF, Hannon GJ. Processing of primary microRNAs by the Microprocessor complex. *Nature.* 2004;432:231-5.
- Yi R, Qin Y, Mascara IG, Cullen BR. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNA and short hairpin RNAs. *Genes Dev.* 2003;17:3011-6.
- Bohnsack MT, Czapinski K, Görlich D. Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNA. *RNA.* 2001;10:185-91.

22. Hutvágner G, McLachlan J, Pasquinelli AE, Bálint E, Tuschl T, Zamore PD. A cellular function for the RNA-interference enzyme Dicer in the maturation of the let-7 small temporal RNA. *Science*. 2001;293:834-8.
23. Ma C, Liu Y, He L. MicroRNAs- powerful repression comes from small RNAs. *Sci China C Life Sci*. 2009;52:323-30.
24. Sen GL, Blau HM. Argonaute 2/RISC resides in sites of mammalian mRNA decay known as cytoplasmic bodies. *Nat Cell Biol*. 2005;7:633-6.
25. Ingelfinger D, Arndt-Jovin DJ, Luhmann R, Achsel T. The human LSM1-7 proteins colocalize with the mRNA-degrading enzymes Dcp1/2 and Xrn1 in distinct cytoplasmic foci. *RNA*. 2002;8:1489-501.
26. Van Dijk E, Cougot N, Meyer S, Babajko S, Wahle E, Séraphin B. Human Dcp 2: a catalytically active mRNA decapping enzyme located in specific cytoplasmic structures. *Embo J*. 2002;21:6915-24.
27. Chu CY, Rana TM. Small RNAs: Regulators and guardians of the genome. *J Cell Physiol*. 2007;213:412-9.
28. Hammond SM, Bernstein E, Beach D, Hannon GJ. An RNA-directed nuclelease mediates post-transcriptional gene silencing in *Drosophila* cells. *Nature*. 2000;404:293-6.
29. Hutvágner G, Zamore PD. A microRNA in a multiple turnover RNAi enzyme complex. *Science*. 2002;297:2056-60.
30. Zeng Y, Yi R, Cullen BR. MicroRNAs and small interfering RNAs can inhibit mRNA expression by similar mechanisms. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100:9779-84.
31. Olsen PH, Ambros V. The lin-4 regulatory RNA controls developmental timing in *Caenorhabditis elegans* by blocking LIN-14 protein synthesis after the initiation of translation. *Dev Biol*. 1999;216:671-80.
32. Kim J, Krichevsky A, Grad Y, et al. Identification of many microRNAs that copurify with polyribosomes in mammalian neurons. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101:360-5.
33. Croce CM, Calin GA. miRNA, Cancer and stem cell division. *Cell*. 2005;122(1):6-7.
34. Metzler M, Wilda M, Busch K, Viehmann S, Borkhardt A. High expression of precursor microRNA 155/BIC RNA in children with Burkitt lymphoma. *Genes Chrom Cancer*. 2004;39:167-9.
35. Eis PS, Tam W, Sun L, et al. Accumulation of miR-155 and BIC RNA in human B cell lymphomas. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;103:3627-32.
36. Takamizawa J, Konishi H, Yanagisawa K, et al. Reduced expression of the let-7 microRNA in human lung cancers in association with shortened postoperative survival. *Cancer Res*. 2005;64:3753-6.
37. Michael MZ, O' Connor SM, van Holst Pellekaan NG, Young GP, James RJ. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res*. 2003;1:882-91.
38. Volinia S, Calin GA, Liu CG, et al. miRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103:2257-61.
39. Akao Y, Nakagawa Y, Naoe T. MicroRNAs 143 and 145 are possible common onco-microRNAs in human cancers. *Oncol Rep*. 2006;16:845-50.
40. Shi B, Sepp-Lorenzino L, Prisco M, Linsley P, deAngelis T, Baserga R. Micro RNA 145 targets the insulin receptor substrate-1 and inhibits the growth of colon cancer cells. *J Biol Chem*. 2007;282:32582-90.
41. Akao Y, Nakagawa Y, Naoe T. Let-7 microRNA functions as a potential growth suppressor in human colon cancer cells. *Biol Pharm Bull*. 2007;29:903-6.
42. Fang WJ, Lin CZ, Zhang HH, Qian J, Zhong L, Xu N. Detection of let-7a microRNA by real-time PCR in colorectal cancer: a single-centre experience from China. *J Int Med Res*. 2007;3:716-23.
43. Brueckner B, Stresemann C, Kuner R, et al. The human let-7a-3 locus contains an epigenetically regulated microRNA gene with oncogenic function. *Cancer Res*. 2007;67:1419-23.
44. Sampson VB, Rong NH, Han J, et al. MicroRNA let-7a down-regulates MYC and reverts MYC-induced growth in Burkitt lymphoma cells. *Cancer Res*. 2007;67:9762-70.
45. Tazawa H, Tsuchiya N, Izumiya M, Nakagama H. Tumor-suppressive miR-34a induces senescence-like growth arrest through modulation of the E2F pathway in human colon cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007;104:15472-7.
46. Schetter AJ, Okayama H, Harris CC. The role of microRNAs in Colorectal Cancer. *Cancer J*. 2012;18(3):244-52.
47. Ng EK, Chong WW, Jin H, et al. Differential expression of microRNAs in plasma of patients with colorectal cancer: a potential marker for colorectal cancer screening. *Gut*. 2009;58(10):1375-81.
48. Huang Z, Huang D, Ni S, Peng Z, Sheng W, Du X. Plasma microRNAs are promising novel biomarkers for early detection of colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2010;127(1):118-26.
49. Cheng H, Zhang L, Cogdell DE, et al. Circulating plasma MiR-141 is a novel biomarker for metastatic colon cancer and predicts poor prognosis. *PLoS One*. 2011;6(3):e17745.
50. Link A, Balague F, Shen Y, et al. Fecal MicroRNAs as novel biomarkers for colon cancer screening. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2010;19(7):1766-74.
51. Koga Y, Yasunaga M, Takahashi A, et al. MicroRNA expression profiling of exfoliated colonocytes isolated from feces for colorectal cancer screening. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2010;3(11):1435-42.
52. Kalimutho M, Di Cecilia S, Del Vecchio Blanco G, et al. Epigenetically silenced miR-34b/c as a novel faecal-based screening marker for colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2011;104(11):1770-8.
53. Schetter AJ, Leung SY, Sohn JJ, et al. MicroRNA expression profiles associated with prognosis and therapeutic outcome in colon adenocarcinoma. *Jama*. 2008;299(4):425-36.
54. Shibuya H, Iinuma H, Shimada R, Horiuchi A, Watanabe T. Clinicopathological and prognostic value of microRNA-21 and microRNA-155 in colorectal cancer. *Oncology*. 2010;79:313-20.
55. Kulda V, Pesta M, Topolcan O, et al. Relevance of miR-21 and miR-143 expression in tissue samples of colorectal carcinoma and its liver metastases. *Cancer Genet Cytogenet*. 2010;200:154-60.
56. Nielsen BS, Jørgensen S, Fog JU, et al. High levels of microRNA-21 in the stroma of colorectal cancers predict short disease-free survival in stage II colon cancer patients. *Clin Exp Metastasis*. 2011;28(1):27-38.
57. Markou A, Tsaroucha EG, Kaklamani L, Fotinou M, Georgoulas V, Li-anidou ES. Prognostic value of mature microRNA-21 and microRNA-205 overexpression in non-small cell lung cancer by quantitative real-time RT-PCR. *Clin Chem*. 2008;54(10):1696-704.
58. Yanaihara N, Caplen N, Bowman E, et al. Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Cell*. 2006;9(3):189-98.
59. Yan LX, Huang XF, Shao Q, et al. MicroRNA miR-21 overexpression in human breast cancer is associated with advanced clinical stage, lymph node metastasis and patient poor prognosis. *RNA*. 2008;14(11):2348-60.
60. Dillhoff M, Liu J, Frankel W, Croce C, Bloomston M. MicroRNA-21 is overexpressed in pancreatic cancer and a potential predictor of survival. *J Gastrointest Surg*. 2008;12(12):2171-6.
61. Li J, Huang H, Sun L, et al. MiR-21 indicates poor prognosis in tongue squamous cell carcinomas as an apoptosis inhibitor. *Clin Cancer Res*. 2009;15(12):3998-4008.
62. Jiang J, Zheng X, Xu X, et al. Prognostic significance of miR-181b and miR-21 in gastric cancer patients treated with S-1/Oxaliplatin or Doxifluoridine/Oxaliplatin. *PLoS One*. 2011;6(8):e23271.
63. Avissar M, McClean MD, Kelsey KT, Marsit CJ. MicroRNA expression in head and neck cancer associates with alcohol consumption and survival. *Carcinogenesis*. 2009;30(12):2059-63.
64. Rossi S, Shimizu M, Barbarotto E, et al. MicroRNA fingerprinting of CLL patients with chromosome 17p deletion identify a miR-21 score that stratifies early survival. *Blood*. 2010;116(6):945-52.
65. Jiang L, Lv X, Li J, et al. The status of microRNA-21 expression and its clinical significance in human cutaneous malignant melanoma. *Acta Histochem*. 2011;114(6):582-8.
66. Zhi F, Chen X, Wang S, et al. The use of hsa-miR-21, hsa-miR-181b and hsa-miR-106a as prognostic indicators of astrocytoma. *Eur J Cancer*. 2010;46(9):1640-9.
67. Diaz R, Silva J, García JM, et al. Deregulated expression of miR-106a predicts survival in human colon cancer patients. *Genes Chromosomes Cancer*. 2008;47(9):794-802.
68. Schepeler T, Reinert JT, Ostenfeld MS, et al. Diagnostic and prognostic microRNAs in stage II colon cancer. *Cancer Res*. 2008;68(15):6416-24.
69. Nishida N, Yokobori T, Mimori K, et al. MicroRNA miR-125b is a prognostic marker in human colorectal cancer. *Int J Oncol*. 2011;38(5):1437-43.
70. Drebber U, Lay M, Wedemeyer I, et al. Altered levels of the onco-microRNA 21 and the tumor-suppressor microRNAs 143 and 145 in advanced rectal cancer indicate successful neoadjuvant chemoradiotherapy. *Int J Oncol*. 2011;39(2):409-15.
71. Akcakaya P, Ekelund S, Kolosenko I, et al. miR-185 and miR-133b deregulation is associated with overall survival and metastasis in colorectal cancer. *Int J Oncol*. 2011;39(2):311-8.
72. Karaayvaz M, Pal T, Song B, et al. Prognostic significance of miR-215 in colon cancer. *Clin Colorectal Cancer*. 2011;10(4):340-7.
73. Yu G, Tang JQ, Tian ML, et al. Prognostic values of the miR-17-92 cluster and its paralogs in colon cancer. *J Surg Oncol*. 2011;106(3):232-7.
74. Faber C, Horst D, Hlubek F, Kirchner T. Overexpression of Dicer predicts poor survival in colorectal cancer. *Eur J Cancer*. 2011;47(9):1414-9.
75. Schetter AJ, Nguyen GH, Bowman ED, et al. Association of Inflammation-Related and microRNA Gene Expression with Cancer-Specific Mortality of Colon Adenocarcinoma. *Clin Cancer Res*. 2009;15(18):5878-87.
76. Bandrés E, Cubedo E, Agirre X, Malumbres R, Zárate R, Ramírez N, et al. Identification by Real-time PCR of 13 mature microRNAs differentially expressed in colorectal cancer and non-tumoral tissues. *Mol Cancer*. 2006;5:29.
77. Tang JT, Wang JL, Du W, et al. MicroRNA 345, a methylation-sensitive microRNA is involved in cell proliferation and invasion in human colorectal cancer. *Carcinogenesis*. 2011;32:1207-15.
78. Nakajima G, Hayashi K, Xi Y, et al. Non-coding MicroRNAs hsa-let-7g and hsa-miR-181b are Associated with Chemoresponse to S-1 in Colon Cancer. *Cancer Genomics Proteomics*. 2006;5:317-24.
79. Hummel R, Hussey DJ, Haier J. MicroRNAs: predictors and modifiers of chemo- and radiotherapy in different tumour types. *Eur J Cancer*. 2010;46:298-311.

80. Schetter AJ, Leung SY, Sohn JJ, et al. MicroRNA expression profiles associated with prognosis and therapeutic outcome in colon adenocarcinoma. *JAMA*. 2008;299:425-36.
81. Arndt GM, Dossey L, Cullen LM, et al. Characterization of global microRNA expression reveals oncogenic potential of miR-145 in metastatic colorectal cancer. *BMC Cancer*. 2009;9:374.
82. Baffa R, Fassan M, Volinia S, et al. MicroRNA expression profiling of human metastatic cancers identifies cancer gene targets. *J Pathol*. 2009;219:214-21.
83. Xiao B, Guo J, Miao Y, et al. Detection of miR-106a in gastric carcinoma and its clinical significance. *Clin Chim Acta*. 2009;400:97-102.
84. Xi Y, Formentini A, Chien M, et al. Prognostic Values of microRNAs in Colorectal Cancer. *Biomark Insights*. 2006;2:113-21.
85. Slaby O, Svoboda M, Fabian P, et al. Altered expression of miR-21, miR-31, miR-143 and miR-145 is related to clinicopathologic features of colorectal cancer. *Oncology*. 2007;72:397-402.
86. Liu L, Chen L, Xu Y, Li R, Du X. MicroRNA-195 promotes apoptosis and suppresses tumorigenicity of human colorectal cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;400:236-40.
87. Valeri N, Gasparini P, Braconi C, et al. MicroRNA-21 induces resistance to 5-fluorouracil by down-regulating human DNA MutS homolog 2 (hMSH2). *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107:21098-103.
88. Chen X, Guo X, Zhang H, et al. Role of miR-143 targeting KRAS in colorectal tumorigenesis. *Oncogene*. 2009;28:1385-92.
89. Motoyama K, Inoue H, Takatsuno Y, et al. Over- and under-expressed microRNAs in human colorectal cancer. *Int J Oncol*. 2009;34:1069-75.
90. Kanwal R, Gupta S. Epigenetics and cancer. *J Appl Physiol*. 2010;109:598-605.
91. Chang KH, Miller N, Kheirelseid EA, et al. MicroRNA signature analysis in colorectal cancer: identification of expression profiles in stage II tumors associated with aggressive disease. *Int J Colorectal Dis*. 2011;26:1415-22.
92. Liu M, Lang N, Qiu M, et al. miR-137 targets Cdc42 expression, induces cell cycle G1 arrest and inhibits invasion in colorectal cancer cells. *Int J Cancer*. 2011;128:1269-79.
93. Borralho PM, Kren BT, Castro RE, da Silva IB, Steer CJ, Rodrigues CM. MicroRNA-143 reduces viability and increases sensitivity to 5-fluorouracil in HCT116 human colorectal cancer cells. *FEBS J*. 2009;276:6689-700.
94. Akao Y, Noguchi S, Ito A, Kojima K, Takagi T, Naegele T. Dysregulation of microRNA-34a expression causes drug-resistance to 5-FU in human colon cancer DLD-1 cells. *Cancer Lett*. 2011;300:197-204.
95. Braun CJ, Zhang X, Savelyeva I, et al. p53-Responsive microRNAs 192 and 215 are capable of inducing cell cycle arrest. *Cancer Res*. 2008;68:10094-104.
96. Boni V, Bitarte N, Cristobal I, et al. miR-192/miR-215 influence 5-fluorouracil resistance through cell cycle-mediated mechanisms complementary to its post-transcriptional thymidilate synthase regulation. *Mol Cancer Ther*. 2010;9:2265-75.
97. Song B, Wang Y, Titmus MA, et al. Molecular mechanism of chemoresistance by miR-215 in osteosarcoma and colon cancer cells. *Mol Cancer*. 2010;9:96.
98. Yantiss RK, Goodarzi M, Zhou XK, et al. Clinical, pathologic, and molecular features of early-onset colorectal carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2009;33:572-82.
99. Chai H, Liu M, Tian R, Li X, Tang H. miR-20a targets BNIP2 and contributes chemotherapeutic resistance in colorectal adenocarcinoma SW480 and SW620 cell lines. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2011;43:217-25.
100. Wang YX, Zhang XY, Zhang BF, Yang CQ, Chen XM, Gao HJ. Initial study of microRNA expression profiles of colonic cancer without lymph node metastasis. *J Dig Dis*. 2010;11:50-4.
101. Chiang Y, Song Y, Wang Z, et al. Aberrant expression of miR-203 and its clinical significance in gastric and colorectal cancers. *J Gastrointest Surg*. 2011;15(1):63-70.
102. Li J, Chen Y, Zhao J, Kong F, Zhang Y. miR-203 reverses chemoresistance in p53-mutated colon cancer cells through downregulation of Akt2 expression. *Cancer Lett*. 2011;304(1):52-9.
103. Mencia N, Selga E, Noe V, Cuidad CJ. Underexpression of miR-224 in methotrexate resistant human colon cancer cells. *Biochem Pharmacol*. 2011;82:1572-82.
104. Bandres E, Bitarte N, Arias F, et al. microRNA-451 regulates macrophage migration inhibitory factor production and proliferation of gastrointestinal cancer cells. *Clin Cancer Res*. 2009;15:2281-90.
105. Bitarte N, Bandres E, Boni V, et al. MicroRNA-451 is involved in the self-renewal, tumorigenicity, and chemoresistance of colorectal cancer stem cells. *Stem Cells*. 2011;29:1661-71.
106. Sarver AL, French AJ, Borralho PM, et al. Human colon cancer profiles show differential microRNA expression depending on mismatch repair status and are characteristic of undifferentiated proliferative states. *BMC Cancer*. 2009;9:1-15.
107. Wang CJ, Stratmann J, Zhou ZG, Sun XF. Suppression of microRNA-31 increases sensitivity to 5-FU at an early stage, and affects cell migration and invasion in HCT-116 colon cancer cells. *BMC Cancer*. 2010;10:1-11.
108. Kurokawa K, Tanahashi T, Iima T, et al. Role of miR-19b and its target mRNAs in 5-fluorouracil resistance in colon cancer cells. *J Gastroenterol*. 2012;47(8):883-95.
109. Liu L, Chen L, Xu Y, Li R, Du X. MicroRNA-195 promotes apoptosis and suppresses tumorigenicity of human colorectal cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;400:236-40.
110. Wang X, Wang J, Ma H, Zhang J, Zhou X. Downregulation of miR-195 correlates with lymph node metastasis and poor prognosis in colorectal cancer. *Med Oncol*. 2012;29:919-27.
111. Ragusa M, Majorana A, Statello L, et al. Specific alterations of microRNA transcriptome and global network structure in colorectal carcinoma after cetuximab treatment. *Mol Cancer Ther*. 2010;9:3396-409.
112. Li J, Zhang Y, Zhao J, Kong F, Chen Y. Overexpression of miR-22 reverses paclitaxel-induced chemoresistance through activation of PTEN signaling in p53-mutated colon cancer cells. *Mol Cell Biochem*. 2011;357:31-8.
113. Zhang G, Xia S, Tian H, Liu Z, Zhou T. Clinical significance of miR-22 expression in patients with colorectal cancer. *Med Oncol*. 2012;29:3108-12.
114. Ma Y, Zhang P, Wang F, et al. miR-150 as a potential biomarker associated with prognosis and therapeutic outcome in colorectal cancer. *Gut*. 2012;61:1447-53.
115. Tang JT, Wang JL, Du W, et al. MicroRNA 345, a methylation-sensitive microRNA is involved in cell proliferation and invasion in human colorectal cancer. *Carcinogenesis*. 2011;32(8):1207-15.
116. Nie J, Liu L, Zheng W, et al. MicroRNA-365, down-regulated in colon cancer, inhibits cell cycle progression and promotes apoptosis of colon cancer cells by probably targeting Cyclin D1 and Bcl-2. *Carcinogenesis*. 2012;33:220-5.
117. Nishida N, Yamashita S, Mimori K, et al. MicroRNA-10b is a prognostic indicator in colorectal cancer and confers resistance to the chemotherapeutic agent 5-fluorouracil in colorectal cancer cells. *Ann Surg Oncol*. 2012;19:3065-71.
118. Vickers MM, Bar J, Gorn-Hondermann I, Yarom N, Daneshmand M, Hanson JE. Stage-dependent differential expression of microRNAs in colorectal cancer: potential role as markers of metastatic disease. *Clin Exp Metastasis*. 2012;2:123-32.
119. Weissmann-Brenner A, Kushnir M, Lithwick Yanai G, Aharonov R, Gibori H, et al. Tumor microRNA-29a expression and the risk of recurrence in stage II colon cancer. *Int J Oncol*. 2012;40(6):2097-103.
120. Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK, et al. Environmental and heritable factors in the causation of cancer-analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. *N Engl J Med*. 2000;343(2):78-85.
121. Ryan BM, Robles AI, Harris CC. Genetic variation in microRNA networks: the implications for cancer research. *Nat Rev Cancer*. 2010;10(6):389-402.
122. Zhan JF, Chen LH, Chen ZX, et al. A functional variant in microRNA-196a2 is associated with susceptibility of colorectal cancer in a Chinese population. *Arch Med Res*. 2011;42(2):144-8.
123. Landi D, Gemignani F, Naccarati A, et al. Polymorphisms within micro-RNA-binding sites and risk of sporadic colorectal cancer. *Carcinogenesis*. 2008;29(3):579-84.
124. Zanetti KA, Haznadar M, Welsh JA, et al. 3'-UTR and Functional Secretor Haplotypes in Mannose-Binding Lectin 2 Are Associated with Increased Colon Cancer Risk in African Americans. *Cancer Res*. 2012;72(6):1467-77.
125. Lee HC, Kim JG, Chae YS, et al. Prognostic impact of microRNA-related gene polymorphisms on survival of patients with colorectal cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2010;136(7):1073-8.
126. Graziano F, Canestrari E, Loupakis F, et al. Genetic modulation of the Let-7 microRNA binding to KRAS 3'-untranslated region and survival of metastatic colorectal cancer patients treated with salvage cetuximabirinotecan. *Pharmacogenomics J*. 2010;10(5):458-64.
127. Zhang W, Winder T, Ning Y, et al. A let-7 microRNA-binding site polymorphism in 3'-untranslated region of KRAS gene predicts response in wild-type KRAS patients with metastatic colorectal cancer treated with cetuximab monotherapy. *Ann Oncol*. 2011;22(1):104-9.
128. Smits KM, Paranjape T, Nallur S, et al. A let-7 microRNA SNP in the KRAS 3'UTR is prognostic in early-stage colorectal cancer. *Clin Cancer Res*. 2011;17(24):7723-31.